

فصل چهارم : کلیات خانواده انتروباکتریاسیه

ویژگی ها و صفات عمومی: انتروباکتریاسیه ها یا باکتری های روده ای، باسیل های گرم منفی و بدون اسپور هستند که در روده انسان و حیوان زندگی می کنند. این خانواده دارای ۶۳ جنس و ۱۰۰ گونه و زیر گونه است. هم چنین عامل حدود ۹۵ درصد از عفونت ها (۳۵-۳۰ درصد از موارد سپتی سمی، ۷۰ درصد موارد عفونت های ادراری و گوارشی) می باشند. این خانواده دارای جنس های پاتوژن (شیگلا و سالمونلا) و جنس های فلور طبیعی و فرصت طلب (شامل اشرشیا، کلبسیلا و پروتئوس) می باشد. برخی دیگر از باکتری ها مانند کرونوباکتر^۱، ادواردسیلا^۲، اوینگیلا^۳، هافنیا^۴، سدسیا^۵، پلیزوموناس^۶ و کلوی وریا^۷ در این خانواده قرار دارند.

ویژگی های مشترک این خانواده شامل :

- (۱) باسیل های گرم منفی، هوازی بی هوازی اختیاری
- (۲) کاتالاز مثبت و اکسیداز منفی (بجز پلیزوموناس)
- (۳) احیای نیترات به نیتريت (بجز فوتورابدوس)^۸
- (۴) توانایی تخمیر حداقل گلوکز
- (۵) فاقد اسپور
- (۶) محتوی C+G از ۳۹ تا ۵۹ هستند.

(۶) اکثراً متحرک هستند به جز شیگلا، کلبسیلا، سالمونلا گالیناروم و سالمونلا پولوروم

- ✓ در صورت متحرک بودن، تازک پری تریش دارند.
- ✓ به نظر میرسد روش MALDI-TOF در آینده ای نزدیک جایگزین تمام روش های بیوشیمیایی جهت تشخیص انتروباکتریاسه ها بجز شیگلا شود. این روش نمی تواند شیگلا را از اشرشیا تمایز دهد.
- ✓ دارای آنتی ژن مشترک انتروباکتریال (ECA^۹) هستند.

محیط های کشت : در جدول زیر مهمترین این محیط ها به همراه ترکیبات سایر ویژگی ها آورده شده است.

Enteric Differential and Selective Media						
Medium	Gram- positive Bacteriostatic Agent	Fermentable Carbohydrate	Indicator	Colony Color Fermenter	Nonfermenter	Category
Eosin methylene blue (EMB)	Eosin Y Methylene blue	Lactose*	Eosin Y Methylene blue	Red or black with sheen	Colorless	S, D
MacConkey	Crystal violet Bile salts	Lactose	Neutral red	Red	Colorless	S, D
Xylose- lysine deoxycholate (XLD)	Bile salts	Xylose Lactose Sucrose	Phenol red	Yellow	Red	S, D
Hektoen enteric (HE)	Bile salts	Salicin Lactose Sucrose	Bromthymol blue	Yellow-orange	Green, blue-green	S, D
Salmonella shigella (SS)	Bile salts	Lactose	Neutral red	Red	Colorless	S
Bismuth sulfite (BS)	Brilliant green	Glucose	Bismuth sulfite	†	†	S
Thiosulfate citrate bile salts sucrose (TCBS)‡	Bile salts pH 8.6	Sucrose	Thymol blue Bromthymol blue	Yellow	Colorless	S, D

D, Differential; S, selective. *Levine's formulation. †H2S- producing salmonellae have black colonies. ‡Used for isolation of vibrios.

از لحاظ تخمیر لاکتوز، انتروباکتریاسیه ها به سه دسته تقسیم می شوند :

(۱) لاکتوز را سریع تخمیر می کنند: اشرشیاکلی، کلبسیلا و انتروباکتر

¹ Cronobacter
² Edwardsiella
³ Ewingella
⁴ Hafnia
⁵ Cedecea
⁶ Plesiomonas
⁷ Kluyvera

^۸ Phototaxidus که روده کرم های حلقوی یا نماتود را آلوده می کند.

⁹ Enterobacterial Common Anthgen

فصل بیست و چهارم : مایکوپلازما

۲) لاکتوز را به آهستگی تخمیر می‌کنند: سراسیبا، سیتروباکتر، ادوارد سیلا، پروویدنسیا، آریزونا، شیگلا سونه ای
۳) لاکتوز را تخمیر نمی‌کنند: شیگلا، سالمونلا، یرسینا، پروتئوس، مورگانلا و ...

✓ بیش از ۹۰ درصد نمونه های حاوی اشرشیاکلی دارای بتاگلوکوزیداز مثبت هستند و سوبسترای^۱ MUG را مصرف می‌کنند.

ساختار آنتی ژنی انتروباکتریاسیه :

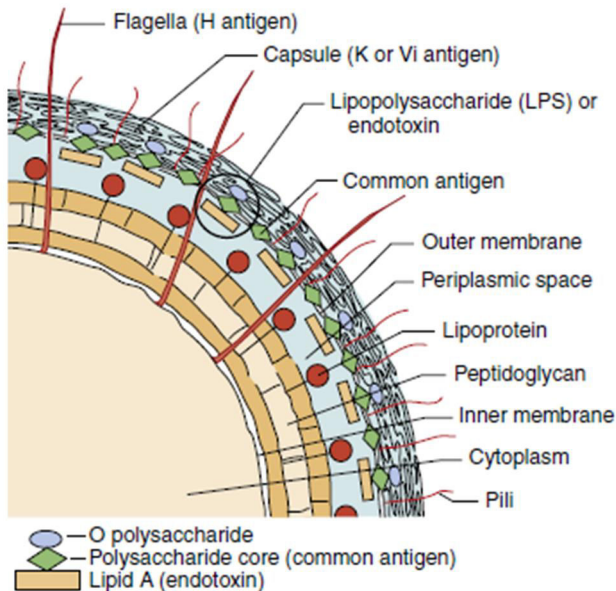


Fig. 25.2 Antigenic structure of Enterobacteriaceae cell wall.

آنتی ژن O: کربوهیدراتی دارای خاصیت آنتی ژنی است و بر علیه آن آنتی بادی از نوع IgM تولید می‌شود. این آنتی ژن به حرارت و الکل اتیلیک مقاوم بوده و به وسیله آگلوتیناسیون باکتریایی مشخص می‌شود. آنتی ژن O در سروتیپ بندی^۲ سوش های انتروباکتریاسیه استفاده می‌شود. در هر جنس آنتی ژن O اختصاصی وجود دارد هر چند واکنش متقاطع بین جنس های نسبتاً به هم وابسته، شایع است مانند سالمونلا، سیتروباکتر، اشرشیا، شیگلا. به این آنتی ژن، آنتی ژن سوماتیک نیز می‌گویند. بیش از ۱۵۰ نوع آنتی ژن مقاوم به حرارت O در این خانواده شناسایی شده است. آنتی ژن Vi در سالمونلا این فاکتور را می‌پوشاند.

آنتی ژن H: آنتی ژن فلاژی می‌باشد که از جنس پروتئین است. آنتی بادی از نوع IgG علیه این آنتی ژن تولید می‌شود. به حرارت و الکل حساس بوده و در مجاورت آن ها خاصیت

خود را از دست می‌دهد ولی به فرمالین مقاوم بوده و از این ماده جهت جداسازی این آنتی ژن استفاده می‌کنند.
✓ آنتی ژن H، واجد تغییرات آنتی ژنیک و تغییر فاز^۳ می‌باشد.

آنتی ژن K: اغلب آنتی ژن های کپسولی را با k نشان می‌دهند و آنتی بادی از نوع IgG بر علیه آن تولید می‌شود. این آنتی ژن در برخی انتروباکتریاسه ها مانند کلبسیلا و انتروباکتر (به مقدار کمتر) دیده می‌شود که همین آنتی ژن در موکوئیدی بودن کلنی نقش دارد.

آنتی ژن k در برخی از سوش ها واکنش متقاطع با یکدیگر دارند مثلاً:

- E. coli O75K100H5 با هموفیلوس آنفلوآنزای تیپ b
- E. coli O75K100H21 با سالمونلا اسکات مولری
- کپسول پلی ساکاریدی تیپ ۲ در کلبسیلا با کپسول پلی ساکاریدی تیپ ۲ در پنوموکوک
- آنتی ژن K₁ در E. coli با مننگوکوک سر و گروه B

آنتی ژن Vi: سالمونلا سروتایپ تایفی همچنین یک آنتی ژن پلی ساکارید کپسولی حساس به حرارت بنام آنتی ژن Vi تولید می‌کند. به طور قراردادی هرگاه این آنتی ژن بر روی سالمونلا و سیتروباکتر یافت شود به آن آنتی ژن Vi (Virulence) می‌گویند. **پیلی یا فیمبریه (F):** دو نوع پیلی در خانواده انتروباکتریاسیه به طور کلی وجود دارد: پیلی معمولی که از طریق کروموزوم کد می‌شود و در اتصال به رسپتورهای اختصاصی نقش دارد. پیلی جنسی که از طریق پلاسمید کد شده و در انتقال ژنتیکی ژن ها موثر است.
✓ آنتی ژن K در برخی گونه های E. coli مانند K₈₈، K₉₉ و P₈₇ مربوط به پیلی می‌باشد.

کلی سین ها^۴ (باکتریوسین ها): در باکتری های گرم منفی، موادی مشابه آنتی بیوتیک تولید می‌شود که وزن مولکولی بالایی داشته و خاصیت کشندگی را روی باکتری های دیگر دارد ولی خود باکتری تولید کننده در مقابل آن مقاوم است (همان تیپ).

¹ 4-methylumbelliferol-β- glucuronide

² Serotyping

³ phase variation

⁴ Colicins

فصل بیست و چهارم : مایکوپلازما

کنترل تولید این مواد توسط پلاسمید انجام شده و جهت تیپ بندی باکتری‌ها از آن استفاده می‌کنند. از باکتریوسین های معروف می‌توان به پایوسین در سودوموناس و مارسه سنس در سراسیا اشاره کرد.
✓ سیستم ترشحی تیپ III در انتقال فاکتورهای ویروالانس در انتروباکتریاسیه نقش دارد.

تست های تشخیصی انتروباکتریاسه ها

(۱) **آزمایش IMVIC** : این آزمایش برگرفته از آزمایش های اندول (I)، متیل رد (MR)، و گس- پروسکوژ (VP) و سیترات C می‌باشد.

الف) اندول: چنانچه باکتری دارای آنزیم تریپتوفاناز باشد می‌تواند تریپتوفان را تجزیه کرده و اندول آزاد کند. از نمونه باکتری‌های با اندول مثبت می‌توان به اشرشیاکلی، کلبسیلا اکسی توکا، مورگانلا مورگانی، شیگلا دیسانتری، شیگلا بوئیدی، شیگلا فلکسنری، پروتئوس ولگاریس، پرویدنسیا و سیتروباکتر دیوروسوس اشاره کرد.

ب) متیل رد (MR) و وگس- پروسکوژ (VP): در طی مسیر گلیکولیز، گلوکز به پیروات اسید متابولیزه شده که این محصول می‌تواند وارد مسیرهای مختلفی شود و مواد مختلف تولید کند که یکی از این مواد ۳ و ۲ بوتاندیول می‌باشد.

در آزمایش VP اساس آزمایش تشخیصی ماده پیش ساز ۳ و ۲ بوتاندیول یعنی استوئین (استیل متیل کربونیول) می‌باشد. از باکتری‌هایی با تست متیل رد مثبت می‌توان به سیتروباکتر فروندی، انتروباکتر آئروژنز، کلبسیلا پنومونیه، کلبسیلا اکسی توکا، پروتئوس میرابیلیس، سالمونلا کلرالسوئیس، سالمونلا تیفی، شیگلا و اشرشیاکلی اشاره کرد.

از باکتری‌هایی با تست VP مثبت می‌توان به انتروباکتر آئروژنز، کلبسیلا، سراسیا مرسه سنس، پروتئوس اشاره کرد.
ج) سیترات و محیط ستریماید: اساس این تست تعیین قدرت یک میکروارگانیسم در مصرف سیترات به عنوان تنها منبع کربن می‌باشد این محیط حاوی سیترات سدیم (منبع کربن)، یون‌های آمونیوم (منبع نیتروژن) و معرف برومو تیمول بلو می‌باشد. از باکتری‌های سیترات مثبت می‌توان به سیتروباکتر، سراسیا، کلبسیلا پنومونیه، کلبسیلا اکسی توکا، انتروباکتر اشاره کرد.

(۲) واکنش فیل آلانین دامیناز : انتروباکتریاسیه ها با مصرف اسیدهای آمینه از طریق دامینه کردن (برداشتن گروه NH_2 از اسید آمینه) آن‌ها را مصرف می‌کنند. این تست جهت تشخیص پروتئوس، مورگانلا و پرویدنسیا مهم است.

(۳) محیط کشت TSI (Triple sugar Iron Agar) : ترکیبات این محیط شامل: قند (گلوکز، لاکتوز، ساکارز)، پپتون (به عنوان ماده رشد پروتئینی)، سدیم تیوسولفات (به عنوان منبع تولید گوگرد)، سولفات آهن (به عنوان معرف تولید گاز H_2S) و معرف فلر رد (جهت تشخیص تولید اسید با ایجاد رنگ زرد). میزان گلوکز موجود در محیط قرمز رنگ TSI، $1/10$ لاکتوز و سوکروز می‌باشد. تخمیر قندها موجب شکستگی و ترک خوردگی محیط یا پرتاب شدن محیط به سمت بالا می‌شود که این به علت تولید گاز می‌باشد. هر دو محیط به صورت شیبدار^۱ بوده که سطح شیبدار در تماس با هوا است و قسمت عمقی^۲ بدون تماس با هوا و به همین دلیل کشت باکتری به صورت عمقی و سطحی انجام می‌شود.

مکانیسم واکنش باکتری با محیط : باکتری در چند ساعت اولیه گلوکز را تجزیه کرده و محیط زرد می‌شود. بعد از اتمام گلوکز باکتری از پپتون استفاده می‌کند و چون واکنش هوازی است فقط در سطح محیط انجام می‌شود و با تولید آمین های قلیایی سطح محیط قرمز می‌شود. اگر باکتری قادر به تخمیر لاکتوز باشد، با تجزیه آن اسید تولید کرده و آمین های قلیایی را خنثی کرده و سطح محیط زرد می‌شود. در صورتی که باکتری H_2S تولید کند، با سیترات آمونیوم فریک واکنش داده و سولفید آهن سیاه رنگ در محیط رسوب می‌کند.

محیط SIM : این محیط واکنش های اندول (I)، تولید سولفید هیدروژن (H_2S) و حرکت^۳ را نشان می‌دهد. تمام گونه‌های انتروباکتریاسیه متحرک هستند به جز کلبسیلا، شیگلا، یرسینیا، سالمونلا گالیناروم و سالمونلا پولوروم.
محیط کریستنسن (Christensen): جهت اثبات وجود آنزیم اوره آز از محیط اوره یا کریستنسن استفاده می‌شود. از مهم‌ترین این باکتری‌ها که آنزیم اوره آز را دارند می‌توان به پروتئوس، مورگانلا، کلبسیلا و سیتروباکتر فروندی اشاره کرد.

محیط EMB (اژوزین متیل بلو) :

¹ Slant
² Butt
³ Motility